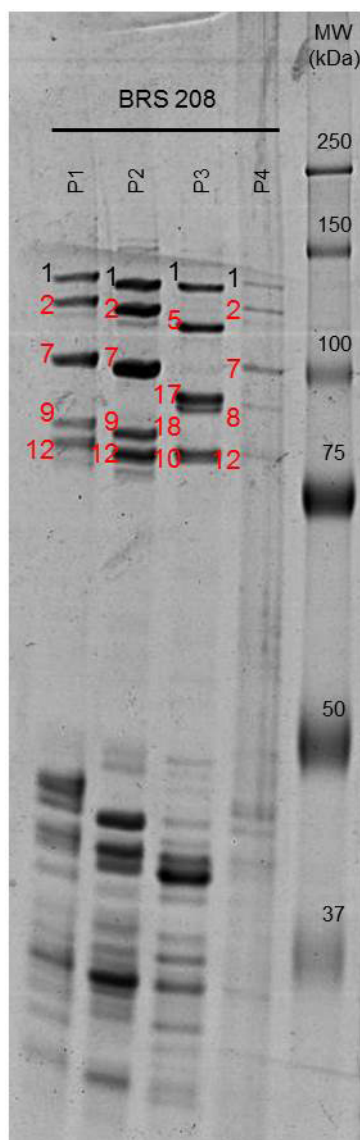


## **Efetividade de Método para Distinção de Cultivares de Trigo e Avaliação de Homogeneidade Genética**



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Trigo  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

# ***Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento***

\_\_\_\_\_online **84**

## **Efetividade de Método para Distinção de Cultivares de Trigo e Avaliação de Homogeneidade Genética**

Camila Vancini  
Gisele Abigail Montan Torres  
Luciano Consoli  
Sandro Bonow  
Magali Ferrari Grando

**Embrapa Trigo**

Rodovia BR 285, km 294

Caixa Postal 3081

Telefone: (54) 3316-5800

Fax: (54) 3316-5802

99050-970 Passo Fundo, RS

<https://www.embrapa.br/fale-conosco>

**Unidade responsável pelo conteúdo e edição:**

Embrapa Trigo

Imagem Capa: *Gisele Abigail Montan Torres*

Normalização bibliográfica: *Maria Regina Martins*

**1ª edição**

Versão on-line (2016)

**Comitê de Publicações**

Presidente: *Mercedes Concórdia Carrão-Panizzi*

Vice-Presidente: *Leila Maria Costamilan*

Membros: *Anderson Santi,*  
*Genei Antonio Dalmago,*  
*Paulo Roberto Valle da Silva Pereira,*  
*Sandra Maria Mansur Scagliusi,*  
*Tammy Aparecida Manabe Kiihl,*  
*Vladirene Macedo Vieira*

**Todos os direitos reservados.**

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte,  
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Embrapa Trigo

---

Efetividade de método para distinção de cultivares de trigo e avaliação de homogeneidade genética / Camila Vancini... [et al.] – Passo Fundo : Embrapa Trigo, 2016.

26 p. – (Boletim de pesquisa e desenvolvimento online / Embrapa Trigo, ISSN 1677-8901 ; 84).

1. Trigo - Cultivar. 2. Glutenina. I. Vancini, Camila. II. Série.

CDD: 633.113

---

© Embrapa Trigo, 2016

# Sumário

<b>Resumo.....</b>	<b>5</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>5</b>
<b>Introdução.....</b>	<b>7</b>
<b>Material e Métodos.....</b>	<b>8</b>
<b>Resultados e Discussão.....</b>	<b>15</b>
<b>Conclusões.....</b>	<b>20</b>
<b>Agradecimentos.....</b>	<b>20</b>
<b>Referências.....</b>	<b>21</b>

# Efetividade de Método para Distinção de Cultivares de Trigo e Avaliação de Homogeneidade Genética

---

*Camila Vancini<sup>1</sup>*

*Gisele Abigail Montan Torres<sup>2</sup>*

*Luciano Consoli<sup>3</sup>*

*Sandro Bonow<sup>4</sup>*

*Magali Ferrari Grando<sup>5</sup>*

## Resumo

A determinação de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade (DHE) é exigência do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) no Brasil para o registro e proteção de uma cultivar. Em sendo o trigo espécie autógama, as exigências de homogeneidade são ainda maiores. Em 2007, a Embrapa Trigo deu início à composição de uma coleção de acessos de trigo com o fim de desenvolver estudos de associação de fenótipos de interesse com marcadores moleculares. Em etapa inicial, os acessos foram avaliados quanto à sua uniformidade fenotípica, de modo a serem, em etapa subsequente, avaliados quanto a diferentes características de interesse. Uma planta única, a partir da qual seriam geradas sementes para as análises posteriores, foi eleita como sendo representativa do acesso. Para poder caracterizar a homogeneidade genética dos acessos, de forma mais precisa que a avaliação fenotípica, foi empregada a análise dos perfis de gluteninas, na comparação de uma planta individualizada (Pi, que corresponderia à planta típica do acesso considerado) em relação a outras três plantas agrupadas (pool de plantas). Este trabalho apresenta os resultados de análise de 211 acessos de trigo. Para 83,9% dos acessos (177), foi verificada uniformidade de perfil de gluteninas de alto e de baixo peso molecular entre a Pi e o pool das demais plantas. Os 34 (16,1%) acessos restantes apresentaram variações de perfil de gluteninas de alto peso molecular e/ou de baixo peso molecular. Os dados gerados por este trabalho comprovam a efetividade de uso das análises de gluteninas, como critério de caracterização da homogeneidade genética de acessos de *Triticum* sp.

Termos para indexação: Uniformidade genética, pureza varietal, gluteninas, *Triticum* sp.

---

<sup>1</sup> Bacharel em Ciências Biológicas, Mestranda do Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade de Passo Fundo, RS.

<sup>2</sup> Engenheira Agrônoma, Dra. em Genética e Biologia Molecular, Pesquisadora da Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS.

<sup>3</sup> Engenheiro Agrônomo, Dr. em Genética e Biologia Molecular, Pesquisador da Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS.

<sup>4</sup> Engenheiro Agrônomo, Dr. em Agronomia-Fitotecnia, Pesquisador da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS.

<sup>5</sup> Bacharel em Ciências Biológicas, Dra. em Biologia Molecular e Celular de Plantas, Professora Universitária, Universidade de Passo Fundo, RS.

# Effective method for wheat cultivars distinction and evaluation of genetic homogeneity

---

## Abstract

The determination of distinctness, uniformity and stability (DUS) is mandatory for the registration and protection of a plant variety in the Ministry of Agriculture, Livestock and Food Supply (MAPA) in Brazil. The homogeneity requirements are even higher because wheat is self-pollinated. In 2007, Embrapa Wheat started a collection of wheat accessions searching for association studies with molecular markers and phenotypes of interest. In an initial stage, accessions were analysed/verified for phenotypic uniformity, and in a subsequent step, evaluated for different traits of interest. Seeds from a chosen single plant were generated for subsequent analysis, representing the original accessions. In order to be able to characterize the genetic homogeneity of each accession, more precisely than the phenotypic evaluation, we used the analysis of glutenin profiles, comparing an individualized plant (Pi, typical plant) with respect to three other grouped plants (pool of plants). This paper presents the results of analysis of 211 wheat accessions. For 83.9% of accessions (177), uniform profiles for high-molecular-weight and low-molecular-weight glutenins were observed between Pi and pool of the other plants. The remaining accessions (34, 16.1%) showed glutenin profile variations for high-molecular-weight and/or low-molecular-weight subunits. The data generated from this work demonstrated the efficiency of using glutenin analysis as characterization criterion for evaluation of genetic homogeneity of *Triticum* sp germplasm.

Index terms: Genetic uniformity, varietal purity, glutenins, *Triticum* sp.

## Introdução

O trigo está entre as plantas mais cultivadas do mundo. No Brasil, as estimativas para a safra 2015/2016 é de 2,1 milhões de hectares (CONAB, 2016). Apresenta adaptabilidade agrônômica, facilidade de armazenamento de grãos e facilidade de conversão de grãos em farinha. A farinha é o principal produto do trigo, com diversos usos na indústria de alimentos e importante componente nutricional da dieta humana.

Um componente importante na qualidade de produtos provenientes da farinha de trigo é o glúten. O glúten é um composto de proteínas insolúveis que associado à água forma uma rede protéica que retém o CO<sub>2</sub> produzido no processo fermentativo. Essas proteínas desempenham um papel fundamental na determinação da qualidade no processo de panificação, conferindo capacidade de absorção, coesividade, viscosidade e elasticidade na massa (WIESER, 2007).

A estrutura, a quantidade e a proporção das proteínas do glúten são fatores determinantes nas propriedades dos produtos derivados da farinha de trigo. Diferenças de qualidade estão associadas com grupos ou blocos específicos destas proteínas. Neste sentido, muitos estudos têm sido realizados para avaliar as proteínas de reserva do trigo e entender seu papel na panificação (TRONSMO et al., 2002). Variações de qualidade são observadas entre as diferentes cultivares de trigo. Desta maneira, é de grande interesse saber em que medida a diversidade das proteínas que constituem o glúten, influenciam as características reológicas e qualitativas da farinha (BRANLARD; DARDEVET, 1985).

As principais proteínas componentes do glúten são as gliadinas e as gluteninas. As gliadinas contêm cadeias de polipeptídeos simples (monômeros) associados por ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas. Elas têm um importante papel relacionado às características de extensibilidade da massa proveniente da farinha de trigo (METAKOVSKY et al., 1997; SHEWRY et al., 1986). Já as gluteninas são proteínas poliméricas, em que suas subunidades estão ligadas por pontes de dissulfeto decorrentes da ligação dos resíduos de cisteína. Estas proteínas são classificadas, em função da massa molecular, em gluteninas de alto peso molecular (HMW-GS, high-molecular weight glutenin subunits), com massa molecular entre 80 kDa e 130 kDa, e gluteninas de baixo peso molecular (LMW-GS, low-molecular weight glutenin subunits) com massa molecular entre 10 kDa e 70 kDa (GIANIBELLI et al., 2001). Trigos comuns são caracterizados por altas proporções do total de gluteninas e de HMW-GS, e pela baixa proporção de gliadinas em relação às gluteninas (WIESER, 2000).

As proteínas de reserva de trigo também têm um importante papel na avaliação de diversidade genética de cultivares, sendo usadas como marcadores genéticos. Essas proteínas, quando submetidas à análise em eletroforese, apresentam padrões de bandas específicos.

É bem documentada a identificação eletroforética e diferenciação de cultivares canadenses graças à caracterização da composição em gliadinas (BUSHUK; ZILLMAN, 1978; ZILLMAN; BUSHUK, 1979). Para cultivares de trigo australianas, emprega-se a técnica de SDS-PAGE para a caracterização de HMW-GS e LMW-GS, visando à obtenção de informações adicionais que auxiliem na identificação varietal (LAWRENCE, 1986). Considerando uma coleção de trigos europeus, Starovicova et al. (2003) verificaram que tanto marcadores de gluteninas como de gliadinas fornecem uma rápida identificação dos acessos, e classificação quanto à qualidade.

Com o crescente desenvolvimento dos programas de melhoramento em todo o mundo, e a fim de proteger os direitos intelectuais da criação de novas cultivares, foi estabelecida, em 1961, a UPOV - "União Internacional para Proteção das Obtenções Vegetais" (International Union for the Protection of New Varieties of Plants). Ela é uma organização intergovernamental, com sede em Genebra, na Suíça. A UPOV tem como missão fornecer e promover um sistema eficaz de proteção das variedades vegetais, objetivando o incentivo ao desenvolvimento de novas variedades de plantas, para o benefício da sociedade.

O Brasil aderiu à UPOV em abril de 1999, em sua versão modificada de 1978. Em 1997, foi criada a Lei n. 9.456 de 25 de abril, regulamentada pelo Decreto n° 2.366, de 5 de novembro de 1997, que institui o direito de Proteção de Cultivares no Brasil (BRASIL, 1997). Segundo esta lei, a proteção abrange a nova cultivar, desde que ela seja distinguível de outras cultivares e espécies vegetais por meio do uso de descritores. Considera-se como descritor, características morfológicas, fisiológicas, bioquímicas ou moleculares herdadas geneticamente, e que permitem a identificação da cultivar.

A UPOV enfatiza a importância de adoção de critérios claros para determinação de características de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade (DHE). Assim, já em 1995, foram sugeridas pesquisas no intuito de se avaliar a adequação e a conveniência de uso dos resultados da eletroforese de marcadores protéicos para fins de DHE (COOKE, 1995b). Gluteninas no caso do trigo, e hordeínas para cevada, juntamente com dados do conteúdo em gliadinas são considerados entre os critérios estabelecidos pela UPOV para identificação de cultivares (ABUGALIEVA et al., 2015; COOKE; LAW, 1998).

Os bancos de germoplasma têm um papel importante na conservação e na garantia de disponibilidade contínua de recursos fitogenéticos. Estes são material inicial de trabalho para fins de melhoramento genético vegetal (NORMAS..., 2014). Com o intuito de otimizar o uso da variabilidade genética presente nos bancos de germoplasmas, estudos vêm sendo desenvolvidos para a criação de coleções nucleares. "Coleção nuclear" seria um conjunto de acessos em número limitado, em que uma espécie e seus parentes silvestres são representados com um mínimo de repetitividade e o máximo de sua diversidade genética (VAN HINTUM et al., 2000).

Desde 1978, a Embrapa Trigo possui o Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de Trigo, onde conserva mais de 14.000 acessos de espécies de trigo e de espécies afins ao trigo (como *Aegilops* sp., *Agropyron* sp., *Elymus* sp., *Elytrigia* sp., *Leymus* sp.). A fim de representar a diversidade genética de uma parte dos acessos de *Triticum* sp. presentes no BAG da Embrapa Trigo, foram considerados 4.574 acessos de *Triticum aestivum* para a construção de uma coleção nuclear voltada para o programa de melhoramento de trigo da Embrapa (BONOW, 2007; BONOW et al., 2009). Essa coleção foi inicialmente composta por duzentos e quarenta genótipos, 130 eram linhagens/cultivares melhoradas no Brasil e 110, melhoradas em outros países (BONOW et al., 2009). Além de se buscar a representatividade da variabilidade genética existente entre os acessos de trigo do BAG da Embrapa Trigo, este trabalho visava também realizar estudos de caracterização fenotípica e genotípica, para o desenvolvimento da abordagem de genética de associação. Neste contexto, a pureza genética dos acessos considerados é fator essencial para evitar o confundimento gerado pela variabilidade intra-acesso devido à presença de diferentes alelos, como alterações na estimativa dos efeitos alélicos e no aumento na taxa de identificação de falso-positivos e falso-negativos.

Muitos dos acessos de trigo inclusos na presente coleção são bastante antigos, e foram desenvolvidos quando as características de DHE ainda não eram consideradas essenciais. Havia, então, necessidade de se avaliar o quão homogêneos eram os acessos de trigo avaliados.

A análise de gluteninas é realizada na Embrapa Trigo desde a década de 80, e mais recentemente, método de extração e visualização dos extratos foram otimizados (TORRES et al., 2010). Estas análises são de custo reduzido, de execução relativamente rápida, e são realizadas rotineiramente no Laboratório de Biotecnologia. Neste trabalho, a análise de gluteninas foi empregada como ferramenta de avaliação preliminar da uniformidade genética de acessos de trigo.

## Material e Métodos

Um total de 211 acessos de *Triticum* sp. foram obtidos junto ao Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Trigo e analisados neste trabalho (Tabela 1). Na Figura 1, é apresentado um esquema representativo da metodologia utilizada. Em cada balde, foram semeados quatro grãos de cada um dos acessos selecionados (etapa 1). As espigas de cada planta foram protegidas no intuito de se evitar polinização cruzada. Ao longo do seu desenvolvimento, as plantas foram avaliadas visualmente quanto a sua homogeneidade fenotípica. Os grãos foram colhidos, e a produção foi separada por planta (P1, P2, P3 ou P4) por acesso (etapa 2). A planta que rendeu maior quantidade de grãos foi definida como planta a ser analisada individualmente (Pi, planta individualizada).

O Laboratório de Biotecnologia (Área de Proteínas) recebeu de cada planta, três grãos para fins de análises (etapa 3). De cada planta, foi separado 1 (um) grão a ser analisado quanto ao perfil de gluteninas. O grão foi cortado ao meio. A parte contendo o embrião foi reservada, para estudos posteriores. De modo a se reduzir o número de amostras, e com isso, o tempo de análise, a parte contendo exclusivamente endosperma das



demais plantas (excetuada a Pi) foram agrupadas num único tubo (etapa 4). O meio-grão, assim como o pool de três meio-grãos, foram macerados em almofariz e reduzidos à farinha (farinha de meio-grão e farinha do pool de três meio-grãos).

Vinte miligramas de farinha foram utilizados para a extração de proteínas de reserva, de acordo com protocolo de Singh et al. (1991). A partir das duas amostras de farinha, para cada acesso de trigo avaliado, foi realizada a extração de gluteninas (etapa 5). Dez microlitros dos extratos de gluteninas foram aplicados em gel de poliacrilamida na presença de dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE). Após eletroforese, os géis foram corados em soluções de Coomassie Blue R250 e G250. A eletroforese e a coloração dos géis foram feitas de acordo com Torres et al. (2010).

Após coloração, foram obtidas imagens digitalizadas dos géis em densitômetro (GS-800 Calibrated Densitometer, BioRad). A análise das imagens dos géis foi feita com uso do software Quantity One (Quantity One 1-D Analysis Software, version 4.6.1, BioRad). A leitura dos perfis de HMW-GS foi feita com base em perfis de cultivares internacionalmente conhecidas, a saber: Chinese Spring, Glenlea, Hope, Neepawa, Opata 85, Sappo, e Yecora Rojo.

Assim, para cada acesso considerado, duas amostras foram analisadas: Pi versus “pool” de três plantas, totalizando as quatro plantas cultivadas por acesso.

**Tabela 1.** Acessos de *Triticum* sp. avaliados quanto à homogeneidade genética, com base no perfil de gluteninas. Total de 211 acessos. Passo Fundo, 2008.

Nome do acesso	Identificador BAG (código BGT)	Espécie	País de obtenção
1855-83	BGT20288	<i>Triticum aestivum</i> L.	sem informação
Abura Komughi	BGT00301	<i>Triticum aestivum</i> L.	Japão
Africa 43	BGT00339	<i>Triticum aestivum</i> L.	África do Sul
Agatha	BGT00344	<i>Triticum aestivum</i> L.	Canadá
Alondra Sib	BGT00421	<i>Triticum aestivum</i> L.	México
Altar Sib	BGT00429	<i>Triticum aestivum</i> L.	Equador
Anahuac 75	BGT00443	<i>Triticum aestivum</i> L.	México
Antizana Sib	BGT00459	<i>Triticum aestivum</i> L.	Equador
Ariana 66	BGT00524	<i>Triticum aestivum</i> L.	Tunísia
Atlas 66	BGT00563	<i>Triticum aestivum</i> L.	Estados Unidos da América
Atle	BGT00564	<i>Triticum aestivum</i> L.	Suécia
Aus 14113	BGT00600	<i>Triticum aestivum</i> L.	Irã
Bagdad	BGT00984	<i>Triticum aestivum</i> L.	Arábia Saudita
Balkan	BGT01008	<i>Triticum aestivum</i> L.	Iugoslávia
Bet Dagan	BGT01227	<i>Triticum aestivum</i> L.	Islândia
BH 1146	BGT01301	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
BR 18	BGT13539	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
BR 24	BGT13549	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
BR 33	BGT13562	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
BRS 177	BGT01445	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
BRS 179	BGT01447	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
BRS 194	BGT01449	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
BRS 207	BGT01450	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
BRS 208	BGT14404	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
BRS 220	BGT14407	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
BRS 35	BGT13564	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
BRS 49	BGT01453	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil

Continua...

Tabela 1. Continuação.

Nome do acesso	Identificador BAG (código BGT)	Espécie	País de obtenção
BRS Angico	BGT01454	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
BRS Camboatá	BGT01456	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
BRS Guabiju	BGT01458	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
BRS Guamirim	BGT11416	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
BRS Timbaúva	BGT01460	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
BRS Umbú	BGT01461	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
Buck Poncho	BGT01487	<i>Triticum aestivum</i> L.	Argentina
Cailloux	BGT01600	<i>Triticum aestivum</i> L.	Tunísia
Cama	BGT01614	<i>Triticum aestivum</i> L.	Bélgica
Castico	BGT01667	<i>Triticum turgidum</i> ssp. <i>turgidum</i> convar <i>durum</i> (Desf.) MK.	Portugal
CD 105	BGT15039	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
CEP 24	BGT01742	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
Chhoti Lerma	BGT01911	<i>Triticum aestivum</i> L.	Índia
Chinese Spring	BGT01944	<i>Triticum aestivum</i> L.	China
CNT 10	BGT02121	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
Colônias	BGT02174	<i>Triticum aestivum</i> L.	sem informação
Cotiporã	BGT02243	<i>Triticum aestivum</i> L.	sem informação
Cruza 0454	BGT02913	<i>Triticum aestivum</i> L.	Quênia
Curzio	BGT03027	<i>Triticum aestivum</i> L.	Itália
Diamant	BGT03131	<i>Triticum aestivum</i> L.	Finlândia
Dobrudza	BGT03234	<i>Triticum aestivum</i> L.	Bulgária
Dreadnought	BGT03265	<i>Triticum aestivum</i> L.	Nova Zelândia
Eagle	BGT03326	<i>Triticum aestivum</i> L.	Austrália
Embrapa 10	BGT03366	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
Embrapa 16	BGT14401	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
Embrapa 22	BGT03370	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
Embrapa 27	BGT03372	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
Embrapa 42	BGT03376	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
Erythrosporum	BGT03403	<i>Triticum aestivum</i> L.	União Soviética
Estanzuela Dora	BGT03432	<i>Triticum aestivum</i> L.	Uruguai
FB 4200	BGT03511	<i>Triticum aestivum</i> L.	sem informação
Feng Mai 11	BGT14424	<i>Triticum aestivum</i> L.	China
Fenman	BGT03571	<i>Triticum aestivum</i> L.	Grã Bretanha
Fleischmann 481	BGT03611	<i>Triticum aestivum</i> L.	Hungria
Frondoso	BGT03675	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
Frontana	BGT03680	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
Fundacep 30	BGT03835	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
G 1179-37	BGT03857	<i>Triticum aestivum</i> L.	Grécia
Galego Rapado	BGT03927	<i>Triticum aestivum</i> L.	Portugal
Gigas 1381	BGT04008	<i>Triticum aestivum</i> L.	Israel
Giza	BGT04015	<i>Triticum aestivum</i> L.	Egito
Granarolo	BGT04066	<i>Triticum aestivum</i> L.	Itália
GW 3	BGT04084	<i>Triticum aestivum</i> L.	Japão
Har 604	BGT14484	<i>Triticum aestivum</i> L.	sem informação
Hesbignon	BGT04233	<i>Triticum aestivum</i> L.	Bélgica

Continua...

Tabela 1. Continuação.

Nome do acesso	Identificador BAG (código BGT)	Espécie	País de obtenção
Huanca	BGT04275	<i>Triticum aestivum</i> L.	Peru
IAC 24	BGT04394	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
IAC 5	BGT04434	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
IAS 20-Iassul	BGT04583	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
INIA F 66	BGT04763	<i>Triticum aestivum</i> L.	México
IPF 64732	BGT04881	<i>Triticum aestivum</i> L.	Estados Unidos da América
IPF 64768	BGT04886	<i>Triticum aestivum</i> L.	Estados Unidos da América
IPF 71349	BGT16244	<i>Triticum aestivum</i> L.	sem informação
IPR 84	BGT15062	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
IPR 85	BGT15063	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
Jacuí	BGT05033	<i>Triticum aestivum</i> L.	sem informação
Jesuíta	BGT05054	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
Josefa Gomes Peri	BGT05064	<i>Triticum aestivum</i> L.	Cuba
Karakoltok-A	BGT19928	<i>Triticum aestivum</i> L.	sem informação
Karamu	BGT05143	<i>Triticum aestivum</i> L.	Nova Zelândia
Karim	BGT05144	<i>Triticum turgidum</i> ssp. <i>turgidum</i> convar <i>durum</i> (Desf.) MK.	Tunísia
Karl	BGT05146	<i>Triticum aestivum</i> L.	Estados Unidos da América
Kavkaz	BGT05156	<i>Triticum aestivum</i> L.	União Soviética
Kenya Farmer	BGT05182	<i>Triticum aestivum</i> L.	Quênia
Kleiber	BGT05260	<i>Triticum aestivum</i> L.	Alemanha
Klein Atlas	BGT05264	<i>Triticum aestivum</i> L.	Argentina
Klein Lucero	BGT05296	<i>Triticum aestivum</i> L.	Argentina
KM 716-91	BGT05312	<i>Triticum aestivum</i> L.	sem informação
Lagoa Vermelha	BGT05388	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
Likafen	BGT05628	<i>Triticum aestivum</i> L.	Chile
Lohmanns Weender	BGT05672	<i>Triticum aestivum</i> L.	sem informação
Londrina	BGT05676	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
LR 18	BGT16236	<i>Triticum aestivum</i> L.	sem informação
LR 21 (RL 6043)	BGT12697	<i>Triticum aestivum</i> L.	Canadá
LR 22a (RL 6044)	BGT12698	<i>Triticum aestivum</i> L.	Canadá
LR 9	BGT16238	<i>Triticum aestivum</i> L.	sem informação
Maiten INIA	BGT05741	<i>Triticum aestivum</i> L.	Chile
Malgorzatka Udy	BGT05743	<i>Triticum aestivum</i> L.	Polônia
Mania 43	BGT05756	<i>Triticum aestivum</i> L.	Iraque
Marquis	BGT05796	<i>Triticum aestivum</i> L.	Canadá
Martonvasari 4	BGT05812	<i>Triticum aestivum</i> L.	Hungria
Maya 74	BGT05829	<i>Triticum aestivum</i> L.	Guatemala
Melchior	BGT05841	<i>Triticum aestivum</i> L.	Holanda
Menceki	BGT05845	<i>Triticum aestivum</i> L.	Turquia
MGS1 Aliança	BGT00408	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
Mironovskaja Jubileinaja 50	BGT06123	<i>Triticum aestivum</i> L.	Ucrânia
Montjoie	BGT06173	<i>Triticum aestivum</i> L.	França
Morisco	BGT06179	<i>Triticum aestivum</i> L.	Espanha
Morocco	BGT06181	<i>Triticum aestivum</i> L.	Islândia
Narino 59	BGT06350	<i>Triticum aestivum</i> L.	Colômbia

Continua...

Tabela 1. Continuação.

Nome do acesso	Identificador BAG (código BGT)	Espécie	País de obtenção
Neepawa	BGT07009	<i>Triticum aestivum</i> L.	Canadá
Ning 84 N 1406	BGT14446	<i>Triticum aestivum</i> L.	China
Norin 10 (CI 12699)	BGT07061	<i>Triticum aestivum</i> L.	Japão
Novosadska Rana 1	BGT07094	<i>Triticum aestivum</i> L.	Sérvia
Novosibirskaja 67	BGT07099	<i>Triticum aestivum</i> L.	Rússia
Nyu Bay	BGT07186	<i>Triticum aestivum</i> L.	Japão
Ônix	BGT07330	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
OR 1	BGT16237	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
Pampeano INTA	BGT07394	<i>Triticum aestivum</i> L.	Argentina
Panser	BGT07400	<i>Triticum aestivum</i> L.	Suécia
Paraguai 281	BGT07405	<i>Triticum aestivum</i> L.	sem informação
PAT 7392	BGT07503	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
Patriarca	BGT07515	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
Peladinho	BGT08204	<i>Triticum aestivum</i> L.	sem informação
Peragis I	BGT08233	<i>Triticum aestivum</i> L.	Alemanha
PF 010069	BGT16223	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
PF 010161	BGT16224	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
PF 010255	BGT16230	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
PF 020450	BGT16243	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
PF 022203	BGT16231	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
PF 030019	BGT16232	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
PF 040183	BGT16233	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
PF 781198	BGT09124	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
PF 87451	BGT10783	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
PF 87849	BGT16234	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
PF 89156	BGT11013	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
PF 89326	BGT11047	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
PF 90134	BGT11094	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
PF 9052	BGT11104	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
PF 909	BGT11109	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
PF 9099	BGT11111	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
PF 9127	BGT11120	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
PF 92393	BGT11189	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
PF 92482	BGT11194	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
PF 926	BGT11203	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
PF 93157	BGT11211	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
PF 93158	BGT11212	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
PF 93159	BGT16225	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
PF 940077	BGT11249	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
PF 940110	BGT11257	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
PF 973443	BGT16226	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
PF 980078	BGT11397	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
PF 980270	BGT16227	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
PF 980354	BGT16228	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
PF 990283	BGT16239	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
PF 990522	BGT16240	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
PF 990606	BGT16229	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil

continua...

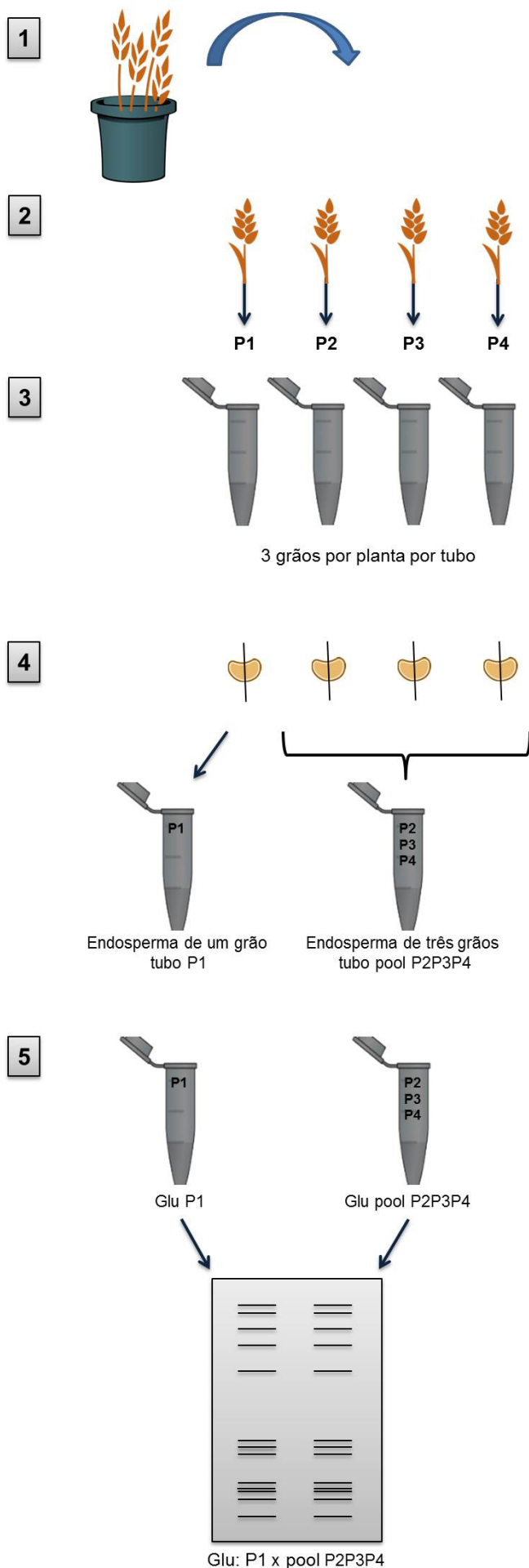
Tabela 1. Continuação.

Nome do acesso	Identificador BAG (código BGT)	Espécie	País de obtenção
PG 1	BGT11420	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
Phabing	BGT11428	<i>Triticum aestivum</i> L.	Nepal
PI 181337	BGT11564	<i>Triticum aestivum</i> L.	Afeganistão
Pilancho 80	BGT11864	<i>Triticum aestivum</i> L.	Bolívia
Poncheau	BGT11979	<i>Triticum aestivum</i> L.	França
Precoz Paraná INTA	BGT11998	<i>Triticum aestivum</i> L.	Argentina
Pusa 62	BGT12053	<i>Triticum aestivum</i> L.	Índia
Rafaela Mag	BGT12104	<i>Triticum aestivum</i> L.	Argentina
Rashid	BGT12120	<i>Triticum aestivum</i> L.	Irã
Relin	BGT12235	<i>Triticum aestivum</i> L.	sem informação
RL 4137	BGT12438	<i>Triticum aestivum</i> L.	Canadá
RL 6004	BGT12683	<i>Triticum aestivum</i> L.	Canadá
RL 6011 (LR 12)	BGT12690	<i>Triticum aestivum</i> L.	Canadá
RL 6114	BGT12708	<i>Triticum aestivum</i> L.	Canadá
RS 1-Fênix	BGT12746	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
Ruminahui	BGT12764	<i>Triticum aestivum</i> L.	Equador
Safira	BGT15079	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
Saikai 165	BGT16235	<i>Triticum aestivum</i> L.	sem informação
Sardah	BGT12924	<i>Triticum aestivum</i> L.	Afeganistão
Schroeder	BGT12969	<i>Triticum aestivum</i> L.	Armênia
Sebakwe	BGT12983	<i>Triticum aestivum</i> L.	sem informação
Sicco	BGT13019	<i>Triticum aestivum</i> L.	Holanda
Siete Cerros	BGT13024	<i>Triticum aestivum</i> L.	México
Silvana	BGT13031	<i>Triticum aestivum</i> L.	Romênia
Snogg	BGT13078	<i>Triticum aestivum</i> L.	Noruega
Sonora	BGT13094	<i>Triticum aestivum</i> L.	México
Springfield	BGT13120	<i>Triticum aestivum</i> L.	Estados Unidos da América
Sumai 3	BGT13190	<i>Triticum aestivum</i> L.	China
Syrimex	BGT13226	<i>Triticum aestivum</i> L.	Síria
T 50130	BGT13238	<i>Triticum aestivum</i> L.	sem informação
Tammi	BGT13268	<i>Triticum aestivum</i> L.	Finlândia
Toropi	BGT13429	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
Transfer	BGT13509	<i>Triticum aestivum</i> L.	Estados Unidos da América
Trigo BR 23	BGT13547	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
Trigo BR 32	BGT13561	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
Trigo Chapéu	BGT13588	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
Trintecinco	BGT13612	<i>Triticum aestivum</i> L.	Brasil
Trio	BGT13613	<i>Triticum aestivum</i> L.	França
Vezhen	BGT13923	<i>Triticum aestivum</i> L.	Bulgária
Villaverde de Trucios	BGT13936	<i>Triticum aestivum</i> L.	Espanha
W 185	BGT14058	<i>Triticum aestivum</i> L.	África do Sul
Wiebe G A 18-3	BGT14159	<i>Triticum aestivum</i> L.	Etiópia
WRT 238-5	BGT14248	<i>Triticum aestivum</i> L.	Estados Unidos da América
Wuhan 3	BGT14252	<i>Triticum aestivum</i> L.	sem informação
WW 9941	BGT14256	<i>Triticum aestivum</i> L.	Suécia
Yung Kwang	BGT14298	<i>Triticum aestivum</i> L.	Coréia do Sul
Zenith	BGT14309	<i>Triticum aestivum</i> L.	Austrália

Fonte: Embrapa Trigo (2008).

## ETAPAS

Ilustração: Camila Vancini



**Figura 1.** Esquema da metodologia empregada para avaliação da homogeneidade genética dos acessos de trigo, com base no perfil de gluteninas. Etapa 1: cultivo de quatro plantas por acesso de trigo, com espigas protegidas. Etapa 2: Colheita dos grãos oriundos de cada uma das plantas (P1, P2, P3 e P4) individualmente. Etapa 3: Recepção pelo Laboratório de Biotecnologia (Área de Proteínas) de três grãos de cada planta, para fins de análises. Etapa 4: Para grãos individualizados, foi feita a separação do embrião (reservado para estudos posteriores) e do endosperma, o qual foi empregado para extração da farinha de trigo. A planta que produziu maior quantidade de grãos foi denominada de P<sub>i</sub>, que no exemplo apresentado foi a planta P1. O endosperma das demais plantas (P2, P3 e P4) compuseram amostra única, denominada de “pool”. Etapa 5: Extração de gluteninas dos dois tubos de farinha, por acesso de trigo avaliado. Visualização dos extratos em géis de SDS-PAGE. Passo Fundo, 2008.



A partir da comparação dos perfis de gluteninas entre Pi e pool, havia duas possibilidades de resultados:

a) ambos os perfis serem idênticos; b) haver diferenças entre os perfis.

Havendo perfis diferentes dentro do mesmo acesso, o pool seria “aberto”, para a análise individual de cada uma das amostras de endosperma das quatro plantas para a verificação do perfil de maior frequência. Repetindo-se o procedimento adotado inicialmente, as proteínas de reserva foram extraídas individualmente para cada uma das respectivas plantas. A comparação dos perfis de gluteninas foi, para estes casos, realizada seguindo os mesmos procedimentos descritos anteriormente.

## Resultados e Discussão

Considerando a análise de 211 acessos de *Triticum* sp. provenientes do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Trigo, 177 (83,9%) apresentaram uniformidade de perfil de gluteninas de alto e de baixo peso molecular entre a Pi e o pool das demais plantas. Exemplos de acessos com homogeneidade total de perfil de gluteninas (considerando-se tanto as HMW-GS quanto as LMW-GS) são apresentados na Figura 2, as cultivares BRS Guamirim, BRS Timbaúva e Cotiporã. Estas cultivares foram lançadas respectivamente em 2006, 2001 e 1965. As duas primeiras são cultivares da Embrapa e Cotiporã foi desenvolvida na Estação Experimental Fitotécnica (EEF) de Veranópolis. Esta última foi a cultivar mais plantada no Rio Grande do Sul, de 1969 a 1971 (SOUSA; CAIERÃO, 2014).

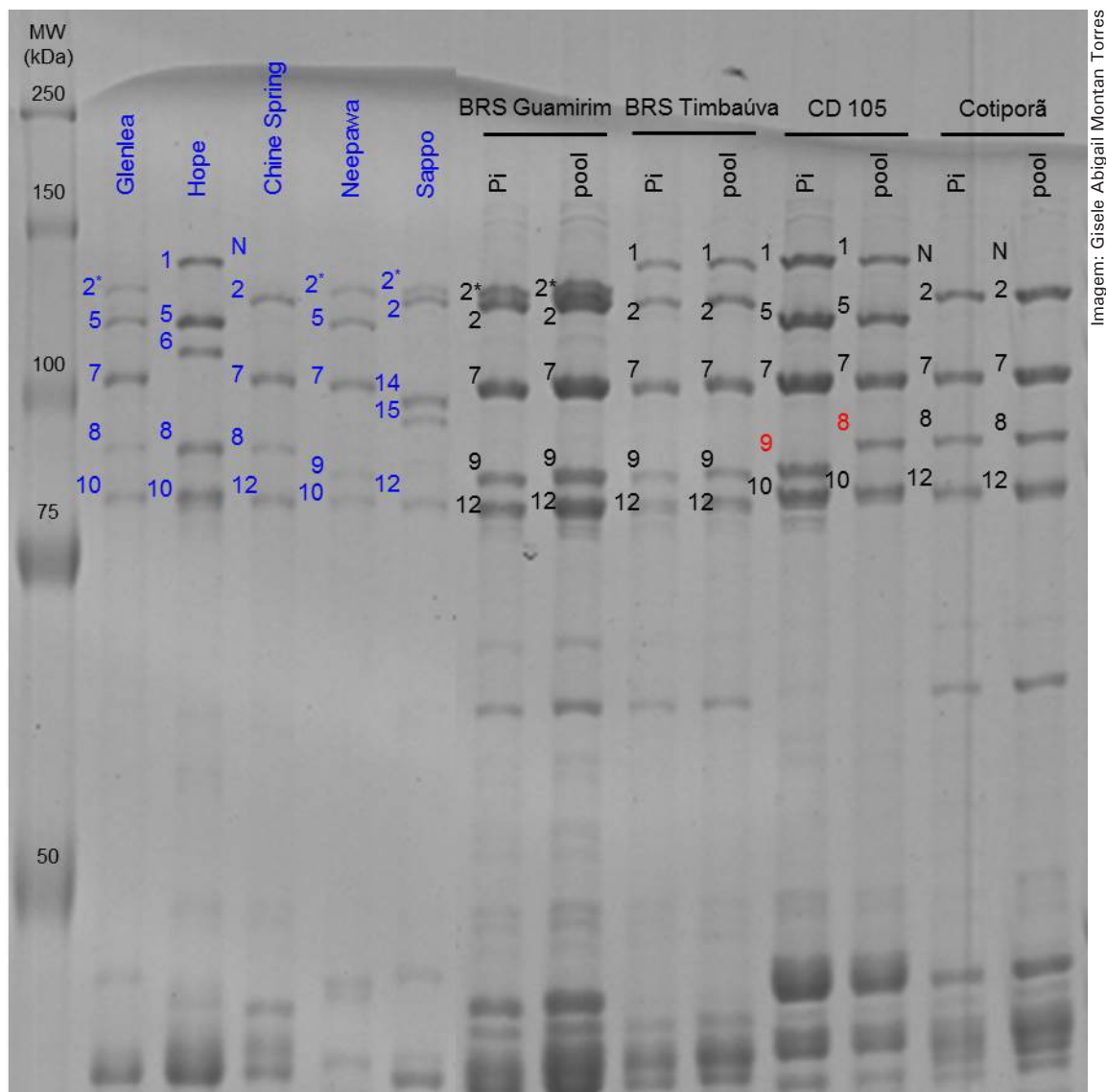
Os 34 (16,1%) acessos restantes (do total de 211 avaliados) apresentaram alguma diferença de perfil de HMW-GS e/ou de LMW-GS (Tabela 2). Quatorze (41,2%) destes acessos com perfil distinto são originários do Brasil. Outros 7 (20,6%) não se tem informação de passaporte. Dois dos acessos da Tabela 2 são originários dos Estados Unidos da América (5,9%). Os onze (32,4%) acessos restantes são originários de onze países diferentes: África do Sul, Argentina, Canadá, Chile, Coreia do Sul, Finlândia, Hungria, Islândia, Itália, Rússia, Suécia. Os acessos que fazem parte da Tabela 2, foram introduzidos no BAG da Embrapa Trigo entre 1978 e 2002 (EMBRAPA TRIGO, 2008).

Dentre estes acessos (34, Tabela 2), sete (20,6%) apresentaram o perfil de HMW-GS diferente entre Pi e pool, porém com o mesmo perfil de LMW-GS. Um exemplo deste tipo de resultado está representado na Figura 2, pela cultivar CD 105. CD 105 é cultivar brasileira, lançada pela Coodetec, no ano de 1999 (SOUSA; CAIERÃO, 2014). Esse tipo de variante alélico é considerado um biotipo de HMW-GS (GIANIBELLI et al., 2002).

Nove (50%) entre os acessos com alguma diferença de perfil de gluteninas entre a Pi e o pool, tiveram perfil de HMW-GS homogêneo, porém com diferenças quanto às LMW-GS. Este é o caso representado na Figura 3, pela cultivar BH 1146. Ela foi desenvolvida no Instituto Agrônomo de Belo Horizonte, no ano de 1955, e foi amplamente cultivada e empregada no desenvolvimento de várias outras cultivares no país (SOUSA; CAIERÃO, 2014). A avaliação da integralidade do perfil de gluteninas, considerando tanto as HMW-GS quanto as LMW-GS, potencializa o emprego da técnica de eletroforese em SDS-PAGE para a avaliação da homogeneidade genética de acessos de trigo. As LMW-GS são codificadas por dezenas de genes, não sendo possível a leitura individual dos alelos, e sim do perfil como um todo.

Ainda, o uso de SDS-PAGE no Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Trigo, para caracterização do perfil de gluteninas cultivares de trigo foi aprimorado, com adaptações de protocolos, para uso em rotina (TORRES et al., 2010). Os perfis de gluteninas podem ser, em sua totalidade (tanto as HMW-GS quanto as LMW-GS), melhor visualizados. Neste contexto laboratorial, a qualidade com que tais análises vêm sendo conduzidas potencializa o emprego e a eficiência desta caracterização, também com a finalidade de avaliação da homogeneidade genética de acessos de trigo.

Finalmente, dezoito (52,9%) dos trinta e quatro acessos apresentados na Tabela 2, apresentaram tanto diferenças quanto às HMW-GS como relacionadas às LMW-GS. Oito (44,4%) dos acessos deste grupo são brasileiros. Para os que se dispõe de informação, os anos de introdução vão de 1978 (IAS 20-Iassul, Trintecinco) a 2002 (BRS 208).



**Figura 2.** Perfis de gluteninas de acessos de *Triticum aestivum* em análises de eletroforese em géis do tipo SDS-PAGE. Estão representados exemplos de perfis de gluteninas homogêneas entre Pi e pool, tanto quanto às de alto peso molecular (HMW-GS) como as de baixo peso molecular (LMW-GS): BRS Guamirim, BRS Timbaúva e Cotiporã; e exemplo de perfil de HMW-GS diferente entre Pi e pool (CD 105). Cultivares de trigo internacionais (Glenlea, Hope, Chinese Spring, Neepawa, Sappo), indicadas em azul, foram utilizadas como referências de leitura dos perfis de HMW-GS. Em vermelho, destacam-se as diferenças de perfil entre amostras do mesmo acesso. MW corresponde ao marcador de massa molecular, Precision Plus Protein Standards, BioRad®. Passo Fundo, 2008.



**Tabela 2.** Acessos de *Triticum* sp. com diferenças no perfil de gluteninas de alto (HMW-GS) e/ou de baixo (LMW-GS) peso molecular. Total de 34 acessos. Os perfis de gluteninas foram comparados entre a planta individualizada (Pi) e o pool de quatro plantas. Sete acessos apresentaram perfil diferente quanto às HMW-GS e igual quanto às LMW-GS. Nove apresentaram perfis de HMW-GS iguais, porém diferentes quanto às LMW-GS. Dezoito acessos apresentaram tanto o perfil de HMW-GS quanto de LMW-GS diferentes entre Pi e pool. Passo Fundo, 2008.

Nome do acesso	Identificador do BAG (código BGT)	Código BRA	Data de entrada no BAG da Embrapa Trigo	País de obtenção	Comparação do perfil entre Pi x pool	
					HMW-GS	LMW-GS
CD 105	BGT15039	-	-	Brasil	diferente	igual
Maíten INIA	BGT05741	-	30/03/1984	Chile	diferente	igual
PF 990283	BGT16239	-	Informação de Passaporte não disponível	-	diferente	igual
Precoz Paraná INTA	BGT11998	BRA-023558	10/04/1992	Argentina	diferente	igual
RS - 1 Fênix	BGT12746	BRA-081213	-	Brasil	diferente	igual
WW 9941	BGT14256	-	06/11/1981	Suécia	diferente	igual
Yung Kwang	BGT14298	-	11/04/1983	Coréia do Sul	diferente	igual
Africa 43	BGT00339	BRA-022543	23/03/1979	África do Sul	igual	diferente
BH 1146	BGT01301	BRA-011037	21/09/1978	Brasil	igual	diferente
Curzio	BGT03027	BRA-104809	02/10/1979	Itália	igual	diferente
Karl	BGT05146	BRA-203190	13/03/1995	Estados Unidos da América	igual	diferente
Londrina	BGT05676	BRA-005011	16/03/1984	Brasil	igual	diferente
MGS 1 Aliança	BGT00408	-	-	Brasil	igual	diferente
PF 940077	BGT11249	-	01/09/1997	Brasil	igual	diferente
WRT 238-5	BGT14248	BRA-070092	07/02/1980	Estados Unidos da América	igual	diferente
Wuhan 3	BGT14252	BRA-173983	09/11/1987	-	igual	diferente
BRS 208	BGT14404	-	27/05/2002	Brasil	diferente	diferente
Fleischmann 481	BGT03611	BRA-127973	03/02/1982	Hungria	diferente	diferente
Fundacep 30	BGT03835	-	02/08/1982	Brasil	diferente	diferente
IAS 20-Iassul	BGT04583	BRA-007315	20/09/1978	Brasil	diferente	diferente
IPF 71349	BGT16244	-	Informação de Passaporte não disponível	-	diferente	diferente
IPR 85	BGT15063	-	-	-	diferente	diferente
Jacuí	BGT05033	BRA-152676	Informação de Passaporte não disponível	-	diferente	diferente
Morocco	BGT06181	-	21/06/1980	Islândia	diferente	diferente

Continua...

Tabela 2. Continuação.

Nome do acesso	Identificador do BAG (código BGT)	Código BRA	Data de entrada no BAG da Embrapa Trigo	País de obtenção	Comparação do perfil entre Pi x pool	
					HMW-GS	LMW-GS
Novosibirskaja 67	BGT07099	-	01/02/1984	Rússia	diferente	diferente
PF 010255	BGT16230	-	Informação de Passaporte não disponível	Brasil	diferente	diferente
PF 89156	BGT11013	BRA-196614	21/09/1998	Brasil	diferente	diferente
PF 909	BGT11109	-	02/07/1997	Brasil	diferente	diferente
PF 980354	BGT16228	-	Informação de Passaporte não disponível	-	diferente	diferente
PF 990606	BGT16229	-	Informação de Passaporte não disponível	Brasil	diferente	diferente
RL 6011 (LR 12)	BGT12690	081787	14/07/1982	Canadá	diferente	diferente
Tammi	BGT13268	-	23/03/1979	Finlândia	diferente	diferente
Trigo BR 23	BGT13547	BRA-1141026	-	-	diferente	diferente
Trintecinco	BGT13612	BRA-160601	20/09/1978	Brasil	diferente	diferente

Fonte: Embrapa Trigo (2008).

SDS-PAGE gel image showing protein bands for various samples. Molecular weight markers (MW) are indicated on the left at 250, 150, 100, 75, and 50 kDa. Samples are labeled at the top: Glenlea, Hope, Chinese Spring, Neepawa, Sappo, Yecora Rojo, Antizana Sib, and BH 1146. For each sample, lanes are labeled with numbers (1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12) or 'N'. Some lanes have asterisks (\*). Red arrows on the right point to specific bands: one at approximately 120 kDa and two at approximately 25 kDa.

**Figura 3.** Perfis de gluteninas de acessos de *Triticum aestivum* em análises de eletroforese em géis do tipo SDS-PAGE. Está representado exemplo de cultivar de trigo BH 1146, com perfil de gluteninas de alto peso molecular (HMW-GS) homogêneo entre Pi e pool, porém com diferenças quanto às de baixo peso molecular (LMW-GS), indicadas pelas flechas vermelhas. Cultivares de trigo internacionais (Glenlea, Hope, Chinese Spring, Neepawa, Sappo, Yecora Rojo), indicadas em azul, foram utilizadas como referências de leitura dos perfis de HMW-GS. Em vermelho, destacam-se as diferenças de perfil entre amostras do mesmo acesso. MW corresponde ao marcador de massa molecular, Precision Plus Protein Standards, BioRad®. Passo Fundo, 2008.

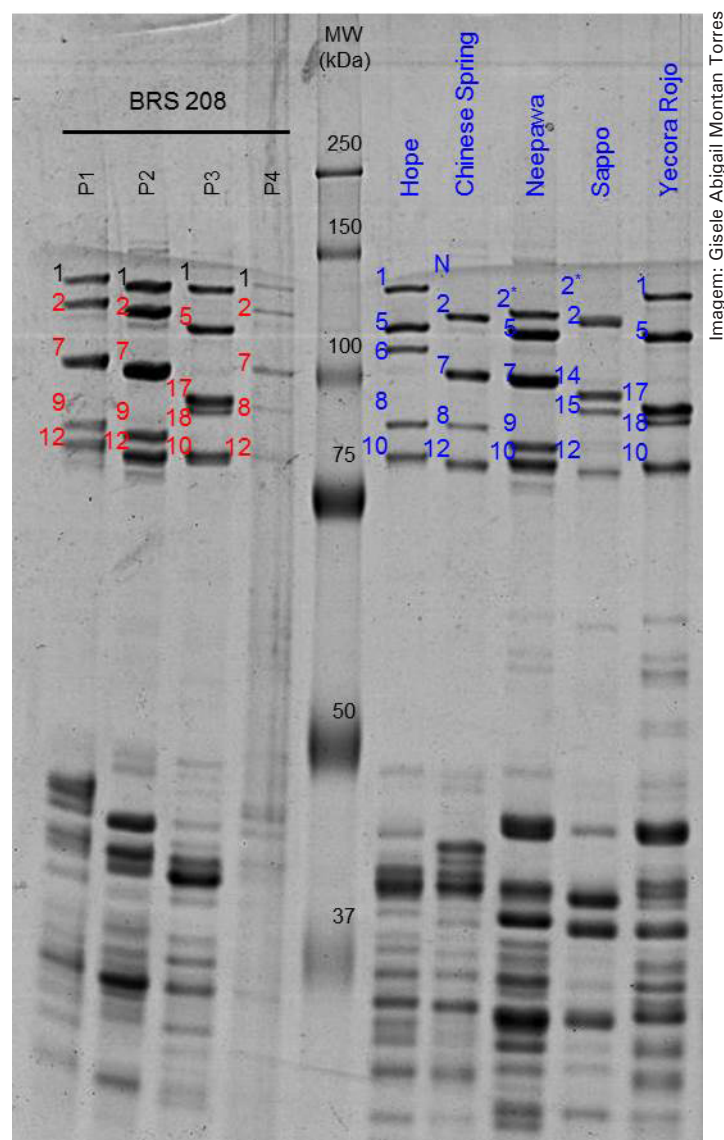
A cultivar BRS 208, desenvolvida pela Embrapa e registrada em 2001 (DOTTO et al., 2001), apresentou a maior variabilidade intra-acesso. Ao analisarmos o perfil das quatro plantas cultivadas do acesso BGT14404 (Figura 4), é possível a identificação de quatro perfis de HMW-GS diferentes, e ainda com diferenças quanto às LMW-GS. Além da hipótese de mistura genética, a reunião de linhagens ainda em heterozigose durante o processo de seleção também pode explicar os resultados observados. De acordo com Dotto et al. (2001), as populações segregantes do cruzamento que deram origem à BRS 208 foram conduzidas pelo método genealógico, com seleções de plantas nas gerações F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub> e F<sub>4</sub>. Na geração F<sub>5</sub>, em função da uniformidade, as plantas foram colhidas de forma massal. Estas plantas constituíram, então, a nova linhagem, denominada de WT 96063. Esta informação, de basear-se fenotipicamente para a avaliação de materiais em F<sub>5</sub>, pode explicar a variabilidade genotípica evidenciada pela análise dos perfis de gluteninas. Em F<sub>5</sub>, estima-se que 96,9% dos locos encontram-se em homozigose. Os 3,1% residuais corresponderiam potencialmente, em trigo, a 3.850 locos em heterozigose, considerando a predição de 124.201 locos gênicos do sequenciamento das 17 gigabases do genoma do trigo, ainda em fase de esboço (IWGSC, 2014).

A presença de vários biotipos é frequentemente observada em acessos de cultivares antigas ou landraces (ORMOLI et al., 2015; PIERGIOVANNI, 2013), indicando a conservação da heterogeneidade típica desse material, como observado para o acesso Trintecino (BGT13612).

Na Tabela 3, são apresentados os perfis das cultivares cujas imagens de géis são apresentadas nas Figuras 2, 3 e 4. As plantas P1 e P2 da cultivar BRS 208 apresentam o mesmo perfil de HMW-GS (1, 7 + 9, 2 + 12), porém com perfis de LMW-GS diferentes. Duas entre quatro plantas avaliadas têm este perfil. É interessante notar que outros trabalhos identificaram este mesmo perfil para a cultivar BRS 208 (CAMPOS et al., 2011; VÁZQUEZ et al., 2012).

Estudos com cultivares oriundas da Austrália (LAWRENCE, 1986), do Canadá (NG et al., 1989), da Itália (POGNA et al., 1989), da USSR (MORGUNOV et al., 1990) e da Argentina (GIANIBELLI et al., 2002) também identificaram variabilidade genotípica intra-acessos avaliados, quando da caracterização de HMW-GS. Para cultivares soviéticas antigas e mais recentes, de um total de 128 cultivares caracterizadas, 28 delas (21,9%) apresentaram biotipos (MORGUNOV et al., 1990), considerando-se amostras de 5 a 20 grãos de cada acesso. Segundo Cooke (1995a), a heterogeneidade da composição em HMW-GS em coleções de trigo varia de 4% a 24%. Em cultivares de trigo argentinas, foi identificada heterogeneidade de perfil de HMW-GS 14% das amostras consideradas, 15 entre as 107 cultivares analisadas (GIANIBELLI et al., 2002). No presente trabalho, foi identificada a presença de biotipos de perfis de gluteninas (HMW- e LMW-GS) para 16,1% dos 211 acessos avaliados, valores próximos dos encontrados pelo país vizinho.

Assim como para estudos genéticos de associação, e para o desenvolvimento de populações de linhagens recombinantes fixadas (para estudos de características quantitativas-QTLs, por exemplo), a falta de homogeneidade genética entre plantas de um mesmo acesso também é fator restritivo para outros usos. Maciel et al. (2004) exemplificam o quão fundamental a pureza genética é no emprego de séries diferenciais, que possibilitam a diferenciação de raças de fungos fitopatogênicos. Diferenças genéticas da planta hospedeira podem acarretar a inferência de falsas variações na população dos patógenos avaliados.



**Figura 4.** Perfis de gluteninas da cultivar BRS 208 em análises de eletroforese em géis do tipo SDS-PAGE. As quatro plantas desta cultivar apresentaram perfis de gluteninas de alto (HMW-GS) e de baixo peso molecular (LMW-GS) diferentes entre si. Cultivares de trigo internacionais (Hope, Chinese Spring, Neepawa, Sappo, Yecora Rojo), indicadas em azul, foram utilizadas como referências de leitura dos perfis de HMW-GS. Em vermelho, destacam-se as diferenças de perfil entre amostras do mesmo acesso. MW corresponde ao marcador de massa molecular, Precision Plus Protein Standards, BioRad®. Passo Fundo, 2008.

**Tabela 3.** Perfil de gluteninas de alto peso molecular das cultivares de trigo apresentadas nas Figuras 2, 3 e 4.

Nome do acesso	Identificador BAG (código BGT)	Amostra	Locos <i>Glu1</i>		
			<i>GluA1</i>	<i>GluB1</i>	<i>GluD1</i>
Antizana Sib	BGT00459		2*	17 + 18	5 + 10
BH 1146	BGT01301		2*	7 + 8	2 + 12
BRS 208	BGT14404	P1	1	7 + 9	2 + 12
BRS 208	BGT14404	P2	1	7 + 9	2 + 12
BRS 208	BGT14404	P3	1	17 + 18	5 + 10
BRS 208	BGT14404	P4	1	7 + 8	2 + 12
BRS Guamirim	BGT11416		2*	7 + 9	2 + 12
BRS Timbaúva	BGT01460		1	7 + 9	2 + 12
CD 105	BGT15039	Pi	1	7 + 9	5 + 10
CD 105	BGT15039	Pool	1	7 + 8	5 + 10
Cotiporã	BGT02243		N	7 + 8	2 + 12

## Conclusões

Duzentos e onze acessos de *Triticum* sp. foram avaliados quanto ao perfil de gluteninas, para fins de caracterização da uniformidade genética. Cento e setenta e sete acessos (83,9%) apresentaram uniformidade de perfil de gluteninas de alto e de baixo peso molecular entre a Pi e o pool das demais plantas. Dos 34 (16,1%) acessos restantes, sete (20,6%) apresentaram o perfil de HMW-GS diferente entre Pi e pool, porém com o mesmo perfil de LMW-GS. Nove (26,5%) tiveram perfil de HMW-GS homogêneo, porém com diferenças quanto às LMW-GS. As dezoito (52,9%) restantes apresentaram diferenças com relação às HMW-GS e às LMW-GS.

Os resultados gerados neste trabalho comprovam a eficiência de aplicação das análises de gluteninas, para fins de caracterização da homogeneidade genética de acessos de *Triticum* sp.

## Agradecimentos

Os autores agradecem à Embrapa pelo financiamento da atividade de pesquisa 'Caracterização da coleção nuclear de trigo para marcadores protéicos correlacionados à qualidade tecnológica' (02.07.02.002.00.02.003). Esta atividade foi desenvolvida no contexto do projeto 'Melhoramento Genético de Trigo para o Brasil', concluído em 31/01/2012.

## Referências

ABUGALIEVA, A.; MORGOUNOV, A.; PENA, J. P.; VOLKOVINSKAYA, N.; SAVIN, T. KASIB spring common wheat genotype identification on glutenin and gliadin subunits. **Ekin Journal of Crop Breeding and Genetics**, Ankara, v. 1, n. 2, p. 32-37, 2015.



BONOW, S. **Coleções nucleares em bancos de germoplasma: conceito e utilização atual em trigo**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2007. 7 p. html. (Embrapa Trigo. Documentos online, 80). Disponível em: <[http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p\\_do80.htm](http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do80.htm)>. Acesso em: 01 junho 2015.

BONOW, S.; SCHEEREN, P. L.; SÓ E SILVA, M.; CONSOLI, L.; CAIERÃO, E.; TORRES, G. A. M.; SILVA JUNIOR, J. P. da; CHAVES, M. S.; MIRANDA, M. Z. de; LIMA, M. I. P. M. Coleção nuclear de trigo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 5., 2009, Guarapari. **O melhoramento e os novos cenários da agricultura: anais**. Vitória: SBMP: Incaper, 2009. 4 p. (Incaper. Documentos, 11). 1 CD-ROM.

BRANLARD, G.; DARDEVET, M. Diversity of grain protein and bread wheat quality. II. Correlation between high molecular weight subunits of glutenin and flour quality characteristics. **Journal of Cereal Science**, London, v. 3, n. 4, p. 345-354, 1985.

BRASIL. Decreto 2.366, de 5 de novembro de 1997. Regulamenta a Lei 9.456/1997, que institui a proteção de cultivares, dispõe sobre o Serviço Nacional de Proteção de Cultivares – SNPC, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 6 nov. 1997. p. 25162

BUSHUK, W.; ZILLMAN, R. R. Wheat cultivar identification by gliadin electrophoregrams. I. Apparatus, method and nomenclature. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 58, n. 2, p. 505-515, 1978.

CAMPOS, L. A. C.; MATSUBARA, A. K.; COSTA, M. S.; OTANI, L. T. Identificação de gluteninas formadoras de glúten do trigo (*Triticum aestivum* L.). In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 5., 2011, Dourados. **Ata e resumos...** Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2011. 7 p. 1 CD-ROM.

CONAB. **Séries históricas - trigo**. 2016. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1252&t&Pagina\\_objcmsconteudos=3#A\\_objcmsconteudos](http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1252&t&Pagina_objcmsconteudos=3#A_objcmsconteudos)>. Acesso em: 30 maio 2016.

COOKE, R. J. Allelic variability at the Glu-1 loci in wheat varieties. **Plant Varieties and Seeds**, v. 8, p. 97-106, 1995a.

COOKE, R. J. Gel electrophoresis for the identification of plant varieties. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 698, n. 1/2, p. 281-299, 1995b.

COOKE, R.J.; LAW, J.R. Seed storage protein diversity in wheat varieties. **Plant Varieties and Seeds**, v. 11, p. 159-167, 1998.

DOTTO, S. R.; BRUNETTA, D.; BASSOI, M. C.; SCHEEREN, P. L.; TAVARES, L. C. V. **Cultivar de trigo BRS 208: produtividade, rusticidade e qualidade**. Londrina: Embrapa Soja, 2001. 22 p. (Embrapa Soja. Circular técnica, 31). Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPT-2010/38895/1/circotec31.pdf>>. Acesso em: 01 junho 2015.

EMBRAPA TRIGO. BAG - Banco Ativo de Germoplasma. **Sistema de gerenciamento**. Passo Fundo, 2008. Disponível em: <<http://www.bag.hlq.com.br/bag>>. Acesso em: 8 setembro 2016.

GIANIBELLI, M. C.; ECHAIDE, M.; LARROQUE, O. R.; CARRILLO, J. M.; DUBCOVSKY, J. Biochemical and molecular characterisation of Glu-1 loci in Argentinean wheat cultivars. **Euphytica**, Wageningen, v. 128, n. 1, p. 61-73, 2002.

GIANIBELLI, M. C.; LARROQUE, O. R.; MACRITCHIE, F.; WRIGLEY, C. W. Biochemical, genetic, and molecular characterization of wheat glutenin and its component subunits. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 78, n. 6, p. 635-646, 2001.

INTERNATIONAL WHEAT GENOME SEQUENCING CONSORTIUM (IWGSC). A chromosome-based draft sequence of the hexaploid bread wheat (*Triticum aestivum*) genome. **Science**, v. 345, n. 6194, p. 1251788, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1126/science.1251788>>. Acesso em: 8 setembro 2016.

LAWRENCE, G. L. The high-molecular-weight glutenin subunit composition of Australian wheat cultivars. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 37, n. 2, p. 125-133, 1986.

MACIEL, J. L. N.; RODRIGUES, P. C. S.; GOMES, P. A.; MORAES, M. G. D. Análise da variabilidade genética de duas cultivares Raminad Str. 3 utilizadas como diferenciadoras de raças de *Pyricularia grisea*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 29, n. 6, p. 631-637, 2004.

METAKOVSKY, E. V.; ANNICCHIARICO, P.; BOGGINI, G.; POGNA, N. E. Relationship between gliadin alleles and dough strength in Italian bread wheat cultivars. **Journal of Cereal Science**, London, v. 25, n. 3, p. 229-236, 1997.

MORGUNOV, A. I.; ROGERS, W. J.; SAYERS, E. J.; METAKOVSKY, E. V. The high-molecular-weight glutenin subunit composition of Soviet wheat varieties. **Euphytica**, Wageningen, v. 51, n. 1, p. 41-52, 1990.

NG, P. K. W.; POGNA, N. E.; MELLINI, F.; BUSHUK, W. Glu-1 allele composition of the wheat cultivars registered in Canada. **Journal of Genetics & Breeding**, Rome, v. 43, p. 53-59, 1989.

NORMAS para bancos de germoplasma de recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura. Rome: FAO, 2014. Disponível em: <[www.fao.org/3/a-i3704s.pdf](http://www.fao.org/3/a-i3704s.pdf)>. Acesso em: 12 setembro 2016.

ORMOLI, L.; COSTA, C.; NEGRI, S.; PERENZI, M.; VACCINO, P. Diversity trends in bread wheat in Italy during the 20th century assessed by traditional and multivariate approaches. **Scientific Reports**, v. 5, n. 8574, 2015. 7 p. Disponível em: <<http://doi.org/10.1038/srep08574>>. Acesso em: 12 setembro 2016.

PIERGIOVANNI, A. R. Evaluation of genetic variation and grain quality of old bread wheat varieties introduced in north-western Italian environments. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v. 60, n. 1, p. 325-333, 2013.

POGNA, N. E.; MELLINI, F.; BERETTA, A.; DAL BELIN PERUFFO, A. The high-molecular-weight glutenin subunits of common wheat cultivars grown in Italy. **Journal of Genetics & Breeding**, Rome, v. 43, p. 17-24, 1989.

SHEWRY, P. R.; TATHAM, A. S.; FORDE, J.; KREIS, M.; MIFLIN, B. J.. The classification and nomenclature of wheat gluten proteins: a reassessment. **Journal of Cereal Science**, London, v. 4, n. 2, p. 97-106, 1986.

SINGH, N. K.; SHEPHERD, K. W.; CORNISH, G. B. A simplified SDS-PAGE procedure for separating LMW subunits of glutenin. **Journal of Cereal Science**, London, v. 14, n. 3, p. 203-208, 1991.

SOUSA, C. N. A. de; CAIERÃO, E. **Cultivares de trigo indicadas para cultivo no Brasil e instituições criadoras 1922 a 2014**. Brasília, DF: Embrapa. 2014. 200 p.

STAROVICOVA, M.; GALOVA, Z.; KNOBLOCHOVA, H. Identification of glutenin markers in cultivars of three wheat species. **Czech Journal of Genetics and Plant Breeding**, Prague, v. 39, n. 2, p. 51-57, 2003.

TORRES, G. A. M.; CONSOLI, L.; ALBUQUERQUE, A. C. S.; SCHEEREN, P. L. **Análises de gluteninas na Embrapa Trigo**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2010. 8 p. (Embrapa Trigo. Boletim de pesquisa e desenvolvimento online, 76). Disponível em: <[http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/bp/p\\_bp76.htm](http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/bp/p_bp76.htm)>. Acesso em: 01 junho 2015.

TRONSMO, K. M.; FAERGESTAD, E. M.; LONGVA, A.; SCHOFIELD, J. D.; MAGNUS, E. M. A Study of how size distribution of gluten proteins, surface properties of gluten and dough mixing properties related to baking properties of wheat flours. **Journal of Cereal Science**, London, v. 35, n. 2, p. 201-214, 2002.

VAN HINTUM, TH. J. L.; BROWN, A. H. D.; SPILLANE, C.; HODGKIN, T. **Core collections of plant genetic resources**. Rome: International Plant Genetic Resources Institute, 2000. 48 p. (IPGRI. Technical bulletin, n. 3).



VÁZQUEZ, D.; BERGER, A. G.; CUNIBERTI, M.; BAINOTTI, C.; MIRANDA, M. Z.; SCHEEREN, P. L.; JOBET, C.; ZÚÑIGA, J.; CABRERA, G.; VERGES, R.; PEÑA, R. J. Influence of cultivar and environment on quality of Latin American wheats. **Journal of Cereal Science**, London, v. 56, n. 2, p. 196-203, 2012.

WIESER, H. Chemistry of gluten proteins. **Food Microbiology**, London, v. 24, n. 2, p. 115-119, 2007.

WIESER, H. Comparative investigations of gluten proteins from different wheat species. I. Qualitative and quantitative composition of gluten protein types. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 211, n. 4, p. 262-268, 2000.

ZILLMAN, R. R.; BUSHUK, W. Wheat cultivar identification by gliadin electrophoregrams. III. Catalogue of electrophoregram formulas of Canadian wheat cultivars. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 59, n. 2, p. 287-298, 1979.

